ミニレビュー

中性子イメージングプレート

中性子構造生物学への応用

新村信雄

蛋白質の立体構造の決定には、X線結晶構造解析という確固たる評価を得た分野があるが、いまさらなぜ中性子回折法なのであろうか。生体物質は、構成元素の約半分が水素原子であり、生命現象の中で、水素原子の果たす役割や生体物質と水との関わりは、大変重要である。しかし、X線回折法では、すべての元素の中で水素原子からの寄与は最も小さいため、その位置決定は困難であり、決定された骨格から水素原子や水分子の位置を類推し、そのふるまいを議論するのが現状である。

一方、中性子回折法では、水素原子の中性子散乱能が炭素原子や酸素原子などと同程度であるため、水素原子の位置情報が得やすい。また、HとD(重水素)では中性子散乱能が大きく異なるため、H/D置換を併用し、水素原子の位置決定の精度を、さらに高めることもできる¹⁾。

また、中性子回折法で用いる中性子のエネルギーは数十 meV であるため、中性子照射で蛋白質結晶が放射線損傷を受けることはない。そのため、中性子回折法では、一つの単結晶で必要なすべての回折斑点を収集でき、また、結晶構造の温度変化から蛋白質分子の熱振動のふるまいを調べることができたり、有利である。

このように有用な手法は、大いに利用されるべきであるが、実際にはそれほど簡単な実験ではない。蛋白質結晶の単位格子の体積は数万 $\text{\AA}^3$ 程度で、中性子回折強度は、単位格子の体積の2乗に逆比例するため、通常の無機物質の結晶と比較すると、この項で4-5桁の反射強度減となる。これをカバーするためには、試料を見込む立体角の大きな中性子検出器を準備することである。X線構造生物学回折実験にお

いてもこの事情は同じであったが、X線用イメージングプレートが蛋白質などの生体高分子単結晶 X線構造解析用二次元検出器として用いられ、この分野の目覚ましい進歩に寄与した²⁾。

中性子イメージングプレート (IP-ND) の開発は、それに比べて相当の遅れをとっており、いくつかの試みは報告されていたが、十分な成果は得られていなかった。われわれは、富士写真フイルム(株)と共同で IP-ND の開発を試み、Gd あるいは ^6Li を含む化合物を導入することで、X 線に匹敵する性能を有するものを製作することができた³⁾⁻⁵⁾。すなわち、検出効率 80% ($\lambda=2\text{ \AA}$)、ダイナミックレンジは 4-5 桁、位置分解能は 0.2 mm 以下である。

これは、十分に中性子構造生物学への応用が可能な性能であることが確認されたので、われわれはラウエ・ランジュバン研究所（フランス）のラウエカメラ (LADI)⁶⁾ で、われわれの開発した中性子イメージングプレートを用い、正方晶系ニワトリ卵白リゾチームの回折実験を行った。LADI は、20 cm×40 cm のイメージングプレート 4 枚を、図 1 に示したように円筒上に貼着したものである。

円筒形の外側に読取機がセットされており、

$3.1 \text{ \AA} < \lambda < 3.9 \text{ \AA}$, beam size $2.5 \text{ mm} \phi$
flux $1.2 \times 10^9 \text{ n/cm}^2 \cdot \text{s}$

図 1 LADI の概念図

図 2 LADI で撮ったニワトリ卵白リゾチーム単結晶からの中性子ラウエ生データ

ドラムの回転および母線方向への読取機の移動で全面の読取りを行っている（そのため、イメージングプレートは裏面が内側、表面が外側に出るように貼着されている。結晶からの回折中性子線は、イメージングプレートの裏側から入射する）。使用した中性子波長範囲は、 $3.1 \text{ \AA} < \lambda < 3.9 \text{ \AA}$ 、試料位置での中性子束は、 $1.2 \times 10^9 \text{ n/cm}^2 \cdot \text{s}$ 、中性子ビームの大きさは $2.5 \text{ mm}\phi$ である。試料に用いたリゾチームの大きさは $1.5 \text{ mm} \times 1.5 \text{ mm} \times 1.0 \text{ mm}$ ($P4_32_12$, $a = b = 79.1 \text{ \AA}$, $c = 37.9 \text{ \AA}$) である。10 日間で独立な反射の数約 8 000 個 ($2 \text{ \AA}$ 分解能) 収集することができた。生データの一例を図 2 に示した。

中性子構造生物学にとって、中性子イメージングプレートの出現は革命という言葉に値するだろう。従来の中性子検出器を用いて、正方晶系ニワトリ卵白リゾチームの結晶構造解析用データ収集には、約 4-6 か月のマシンタイムが必要である。1 年間にマシンタイムを蛋白質中性子結晶学に全部割り当て、すべてが順調にいても、1-2 個の試料のデータ収集が限度である。ところが、中性子イメージングプレートの出現で、1 年に 10-20 種類の試料の実験

が可能ということは、構造生物学の研究者の多くの方に、生体物質中性子回折実験を行う機会が与えられるということである。解析結果の蓄積は構造生物学の次の発展の礎である。今、蛋白質中性子結晶学が構造生物学へ寄与できる時代が始まろうとしている。

Key Words : neutron diffraction, imaging plate neutron detector, neutron structural biology, hydrogen atom, lysozyme

文 献

- 1) 新村信雄：蛋白質・核酸・酵素, **39**, 1283 (1994)
- 2) Miyahara, J., Takahashi, K. et al. : *Nucl. Instr. Meth.*, **A310**, 572 (1986)
- 3) Niimura, N., Karasawa, Y. et al. : *ibid.*, **A349**, 521 (1995)
- 4) 新村信雄：原子力工業, **41**, (6), 54 (1995)
- 5) 新村信雄：Radioisotopes, **44**, 449 (1995)
- 6) Cipriani, F., Castagna, J. C. et al. : *Physica*, **B213/214**, 975 (1995)

(日本原子力研究所先端基礎研究センター)